

**Fibroblastične celice človeške predkožke (HFFC) | 30071**

5

**Splošne informacije****Description**

Človeške fibroblastne celice iz predkožice (HFFC) izhajajo iz fibroblastnega tkiva mladostne predkožice. Te celice so bistveno orodje v študiju človeške biologije, zlasti v raziskavah, povezanih z celjenjem ran, biologijo kože in celično staranje. Fibroblasti imajo ključno vlogo pri sintezi ekstracelularne matrice in kolagena, ki sta bistvena sestavna dela vezivnega tkiva. HFFC se pogosto uporabljajo v poskusih, ki raziskujejo mehanizme razvoja kože, preoblikovanja dermisa in celičnih odzivov na različne rastne faktorje in citokine.

HFFC se odlikujejo po vretenasti morfologiji in sposobnosti hitre proliferacije in vitro, zaradi česar so primerni za različne eksperimentalne aplikacije, vključno s tkivnim inženirstvom, regenerativno medicino in presejanjem zdravil. Te celice so dragocene tudi v študijah, ki preučujejo učinke UV-sevanja na kožne celice, patofiziologijo fibrotičnih bolezni in proces staranja kože. Zaradi svojega neonatalnega izvora je manj verjetno, da so HFFC nakopičile mutacije v primerjavi z odraslimi fibroblasti, kar jih naredi idealni model za preučevanje primarnih celičnih funkcij.

**Organism** Človek**Tissue** Predkožka**Značilnosti****Morphology** Fibroblast**Growth properties** Pripadajoče**Regulativni podatki****Citation** Fibroblastične celice človeške predkožke (HFFC) (katalogska številka Cytion 300715)**NCBI\_TaxID** 9606**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM:Ham's F12 (1:1), w: 3,1 g/L glukoze, w: 2,5 mM L-glutamina, w: 15 mM HEPES, w: 0,5 mM natrijevega piruvata, w: 1,2 g/L NaHCO<sub>3</sub> (številka izdelka Cytion 820400a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 10 ng/ml bFGF, 10 mikrogramov/l inzulina

**Fibroblastične celice človeške predkožke (HFFC) | 30071**

5

**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavržite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo 90 % FBS + 10 % DMSO za ohranjanje viabilnosti ali CM-1 (kataloška številka Cytion 800100), ki vsebuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, ki ga povzroča krio.**Thawing and Culturing Cells**

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

**Incubation Atmosphere** 37 °C, 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

## Fibroblastične celice človeške predkožke (HFFC) | 30071

5

**Flask Coating** Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno  $-150$  do  $-196^{\circ}\text{C}$ . Shranjevanje pri  $-80^{\circ}\text{C}$  je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.